



Здружение за заштита на растенијата
на Република Македонија

Society for Plant Protection
of Republic of Macedonia

МАК-ISSN-1409-5084

UDC 632

ЗАШТИТА НА РАСТЕНИЈА



PLANT PROTECTION

ГОДИНА XX

VOLUME XX

СКОПЈЕ - SKOPJE
2009



Здружение за заштита на растенијата на Република Македонија
Society for Plant Protection of Republic of Macedonia

Редакциски одбор:

Станислава Лазареvsка
Миле Постоловски
Мирко Михајловски
Ефтим Анчев
Ташко Костов
Петар Јованчев

Издавачки одбор:

Филип Пејчиновски
Ефтим Анчев
Миле Постоловски
Ташко Костов
Мирко Михајловски
Ристо Лозановски
Љупка Хаџи-Ристова
Љубе Василев
Благоја Иванов
Станислава Лазареvsка
Петар Јованчев
Бранко Балтовски

Главен уредник

Станислава Лазареvsка

Одговорен уредник

Миле Постоловски

**Јазично уредување
на македонски јазик**

Лидија Антоновска

**Јазично уредување
на англиски јазик:**

Марија Пулиос

Слика на насловна страна

Ambrosia artemisipolia L.

Редакција и администрација:

Бул. Александар Македонски 66
1000 Скопје, Република Македонија
тел: +389 2 3115227
www.zastitanarastenija.makedonico.com

Editorial Staff:

Stanislava Lazarevska
Mile Postolovski
Mirko Mihajlovski
Eftim Ancev
Tasko Kostov
Petar Jovancev

Editorial Board:

Filip Pejcinovski
Eftim Ancev
Mile Postolovski
Tasko Kostov
Mirko Mihajlovski
Risto Lozanovski
Ljupka Hadzi-Ristova
Ljube Vasilev
Blagoja Ivanov
Stanislava Lazarevska
Petar Jovancev
Branko Baltovski

Editor in Chief:

Stanislava Lazarevska

Responsible Editor:

Mile Postolovski

Language Editor

for Macedonian language:

Lidija Antonovska

Language Editor

for English language:

Marija Pulios

Cover page picture:

Ambrosia artemisipolia L.

Address of Editorship:

Bul. Aleksandar Makedonski bb
1000 Skopje, Republic of Macedonia
tel: +389 2 3115227
www.zastitanarastenija.makedonico.com

ВЛИЈАНИЕТО НА РАЗЛИЧНИ ДОЗИ ГАМА ЗРАЦИ ВРЗ 'РТЛИВОСТА И ПОЈАВАТА НА МУТАНТНИ ФОРМИ КАЈ НЕКОИ ГЕНОТИПОВИ ОРИЗ

THE INFLUENCE OF DIFFERENT DOSES OF GAMMA RAY RADIATION ON THE EMERGENCE AND APPEARANCE OF SELECTED MUTANTS IN SOME GENOTYPES OF RICE

Верица Илиева¹, Даница Андреевска², Д. Андов², Наталија Маркова¹
Verica Ilieva¹, Danica Andreevska², D. Andov², Natalija Markova¹

¹Земјоделски факултет, Штип, Република Македонија

²ЈНУ Земјоделски Институт, Скопје, ОПО за ориз, Кочани, Република Македонија

¹Faculty of Agriculture, Shtip, Republic of Macedonia

²Institute of Agriculture, Skopje, Rice Department, Kochani, Republic of Macedonia

Извадок

Семе од три сорти (*сан андреа*, *рива* и *церво*) и седум линии (1/1-2-4, 2/8-3, 11/1-1-1, 11/1-1-2, 11/1-1-3, 11/1-1-4 и 25/1-1-2-2) ориз, сите од типот *japonica*, пред сеидбата е зрачено со 50, 100 и 150 Gy гама зраци -Co⁶⁰, со цел создавање на нова генетска варијабилност. Нивната реакција на употребените дози од гама зраци е анализирана во M₁ генерацијата, преку испитување на 'ртливоста, бројот на преживеани растенија (по 30 дена од сеидбата и на крајот на вегетацијата) и бројот на стерилни растенија, како и врз основа на појавата на различни морфолошки и физиолошки измени во M₂ генерацијата (раностасност, помала висина на стеблото, отпорност на полегнување, форма и исправеност на последниот лист, форма и големина на зрното). Процентот на 'ртливост е висок кај сите испитувани генотипови, независно од дозата на зрачење. Со зголемувањето на дозата на зрачење бројот на преживеани растенија се намалува, а се стимулира појавата на поголем број стерилни растенија. Ефектот на гама зраците врз појавата на пожелни мутантни форми во M₂ генерацијата е најголем при варијантата со 150Gy, а најголем број од селектираните перспективни мутантни генотипови се добиени од генотипот 1/1-2-4.

Клучни зборови: ориз, генотип, генетска варијабилност, гама зраци, мутагенеза.

Summary

In order to produce a new genetic variability, before the seedtime, the seed of three different rice varieties (*san andrea*, *riva*, and *cervo*) and seven rice lines (1/1-2-4, 2/8-3, 11/1-1-1, 11/1-1-2, 11/1-1-3, 11/1-1-4 and 25/1-1-2-2), all from type *japonica*, is radiated with 50, 100 and 150 Gy gamma ray -Co⁶⁰.

Their reaction of the used doses of gamma rays is analyzed in M₁ generation, during examination of the emergence, the number of survived plants (30 days after the seedling and at the end of vegetation) and the number of sterile plants, as well as based on the appearance of different morphological and physiological changes in M₂ generation (earliness, shorter stem, immunity of lying down, form and erectness of the last leaf, the form and the size of grain).

The percentage of emergence is high in all analyzed genotypes, independently of the dose of radiation. With increasing of the dose of gamma radiation the number of survived plants is reduced and the appearance of higher number of sterile plants is stimulated. The effect of gamma radiation on the appearance of selected mutants form in M₂ generation is the largest with the variety of 150 Gy, and the largest number of selected perspective mutant genotypes are received from genotype 1/1-2-4.

Key words: rice, genotype, genetic variability, gamma rays, mutagenesis.

Вовед

Основата на селекцијата кај растенијата се наоѓа во процесите на природните мутации. Независно од огромната практична вредност на одделните природни мутации селекционерите не можат да сметаат само на нив. Поради ретката појава и тешкото забележување на изменетите форми во природата, селекционерите се ориентираат кон вештачко создавање на мутанти.

Мутагенезата во голема мера се користи за предизвикување генетска варијабилност кај голем број култури, главно поради фактот што технологијата е едноставна, релативно ефтина, применлива кај сите видови растенија и еднакво корисна при мали и големи зафати (Swaminatan, 1995, Siddiqui and Khan, 1999). Појавата и фреквенцијата на мутациите може да биде регулирана со менување на дозата на мутагенот (Jander et al., 2003; Menda et al., 2003; Menda et al., 2004, MacKenzie et al., 2005; Kim et al., 2006).

За предизвикување мутации се применуваат физички и хемиски мутагени средства. Кај растенијата, чувствителноста на физичките и на хемиските мутагени е видова и сортна специфичност и главно непозната за повеќето од видовите (Gilchrist and Naughn, 2005). За добивање мутанти со повеќе позитивни наследни измени, без да се наруши растот, развитокот и продуктивноста на растенијата, неопходно е познавањето на оптималните дози од соодветните мутагени средства.

Со зголемувањето на дозата на зрачењето над оптималната се намалува 'ртливоста на семето во M_1 генерацијата како и бројот на преживеани растенија (Бовкис, 1978). Критични дози се сметаат оние при кои што само 30-40% од растенијата формираат семе (Енчев и Чиликов, 1984).

Кај оризот (*Oryza sativa* L.), тип *japonica*, за критични дози се сметаат дозите од 250-400Gy, а оптимални за селекциони цели 100-280Gy, (Brunner, 1988, според Јанкулов, 1996).

Цел на овие истражувања е анализа на чувствителноста на некои генотипови ориз на различни дози гама зраци и проширување на постојниот генофонд на ориз кај нас, за селекциони и производни цели.

Материјал и методи

Семе од три сорти (*сан андреа*, *рива* и *црво*) и седум линии (1/1-2-4, 2/8-3, 11/1-1-1, 11/1-1-2, 11/1-1-3, 11/1-1-4 и 25/1-1-2-2) ориз, сите од типот *japonica*, пред сеидбата, е зрачено со три дози (50, 100 и 150 Gy) гама зраци ^{60}Co . Зрачењето е извршено во Институтот по генетика во Софија, а лабораториските и полските истражувања се спроведени во ОПО за ориз-Кочани. Незрачено семе од секоја сорта и линија е користено како контрола.

Во лабораториски услови е проверена 'ртливоста на семето (четири повторувања по 25 зрна за секоја зрачена варијанта и контрола). Во полски услови поодделно се посеани по 400 зрна од секоја зрачена варијанта (за M_1 генерацијата) и контрола, во редови со растојание 14x20cm, распоредени во Рандомизиран Блок Систем со три повторувања. Триесет дена по сеидбата е извршено броење на никнатите (преживеани) растенија, како и на крајот на вегетацијата кога освен бројот на преживеани е анализиран и бројот на стерилни растенија. Главната метличка од секое M_1 растение е посеана за M_2 генерацијата. После секоја зрачена варијанта е посеана по една метличка од контролата. Во M_2 генерацијата е следена појавата на морфолошки и физиолошки промени (помала висина на стеблото, пократка вегетација, отпорност на полегнување, форма и исправеност на последниот лист, форма и големина на зрното). Кај регистрираните мутантни растенија по жетвата во лабораторија се анализирани компонентите од коишто зависи приносот кај оризот (број на продуктивни метлички по растение, број на продуктивни зрна во главната метличка, маса на зрна од главната метличка и маса на зрна од цело растение). Врз основа на тие својства за селекциони цели се избрани 39 генотипови за натамошни испитувања.

Резултати и дискусија

Основно значење за селекцијата при индуцираната мутагенеза има бројот на корисните мутанти, а не вкупниот број на мутирани растенија. Познато е дека со зголемувањето на дозата од одреден мутаген фактор се зголемува и бројот на мутантни растенија. Но, истовремено со тоа се зголемува и веројатноста заедно со корисните мутации да се индуцираат и други мутации кои не се пожелни. Врз појавата на поголем број пожелни мутации и успешната практична примена на мутагенезата во селекцијата на растенијата пресудно значење има и 'ртливоста на семето по одреден третман.

Резултатите за влијанието на различните дози гама зраци на 'ртливоста на семето за M_1 генерацијата на користените генотипови во овие истражувања се дадени во Табела 1. Од истите се гледа дека употребените дози не манифестираат поголеми отстапувања кај 'ртливоста на семето во лабораториски услови. Процентот на 'ртливост е висок кај сите испитувани генотипови, независно од дозата на зрачење. Најмала 'ртливост има семето зрачено со 150Gy (96,7%), а најголема (меѓу зрачените варијанти) семето зрачено со 50Gy (98,3%). Кај незраченото семе 'ртливоста изнесува 99,1%. Слични резултати изнесуваат Akbar and Babar, 2003.

Поради специфичните услови на одгледување на оризот, голем дел од семето при 'ртењето и никнењето во полски услови пропаѓа. Вкупниот број на никнати растенија по 30 дена од сеидбата кај незраченото семе изнесува 2.128, што претставува

53,2% од вкупниот број посеани зрна. Кај сите зрачени варијанти при никнењето (формирањето на 2-3 листа) е регистрирано позабележително постепено пропаѓање на растенијата во однос на контролата. Како резултат на тоа констатирано е бројот на никнати растенија по 30 дена од сеидбата кај сите зрачени варијанти е значително помал во споредба со контролата. Истиот е најмал кај варијантите со 150Gy (1771 или 38,3% од вкупниот број на посеани зрна), а најголем кај варијантите со 50Gy (1694 или 42,3% од вкупниот број посеани зрна). Во однос на контролата просечниот процент на никнати растенија по 30 дена од сеидбата изнесува од 76,6% кај варијантите со

150Gy до 80,6% кај варијантите со 50Gy (Таб. 1). Кај генотиповите 11/1-1-1 и 11/1-1-2 најголем број никнати растенија при зрачените варијанти има варијантата од 100Gy, додека генотиповите 25/1-1-2-2 и Рива најголем број на никнати растенија при зрачените варијанти имаат во варијантата од 150Gy. Тоа покажува дека врз дејството на мутагениот фактор одредено влијание има и генетската специфичност на почетниот материјал. Истото може да се заклучи и од анализата на бројот на преживеани и бројот на стерилни растенија на крајот од вегетацијата.

Табела 1. Влијанието на различните дози гама зраци врз 'ртливоста и бројот на никнати растенија во M_1 генерацијата

Table 1. Influence of diverse doses of gamma rays on the germination and emergence in M_1 generation

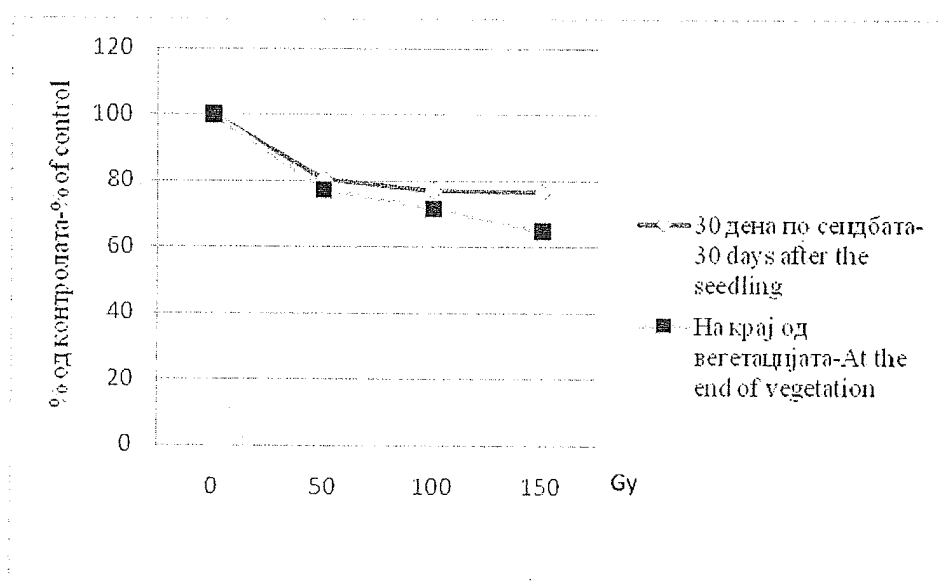
Линии и сорти Lines and varieties	'Ртливост во лабораториски услови-% Germination under laboratory conditions -%				Бр. на никнати растенија по 30 дена од сеидбата Number of emerged plants after 30 days of the seedling				% на никнати растенија во однос на контролата % of emerged plants compared with the control			
	σ	50	100	150	σ	50	100	150	σ	50	100	150
1/1-2-4	99	98	97	97	184	138	136	134	100	75,0	73,9	72,8
2/8-3	100	97	96	96	220	208	180	181	100	94,5	81,8	82,3
11/1-1-1	99	100	98	96	207	142	190	179	100	68,6	91,8	86,5
11/1-1-2	100	99	97	96	172	147	159	152	100	85,5	92,4	88,4
11/1-1-3	100	99	96	97	227	165	145	142	100	72,7	63,9	62,5
11/1-1-4	97	97	96	96	245	190	170	166	100	77,5	69,4	67,7
25/1-1-2-2	99	99	99	99	157	133	127	141	100	84,7	80,9	89,8
San Andrea	99	98	98	97	277	230	174	169	100	83,0	62,8	61,0
Riva	98	98	97	97	141	134	132	138	100	95,0	93,6	97,9
Cervo	100	98	98	96	298	207	176	169	100	69,5	59,1	56,7
Просек- Average	99.1	98.3	97.2	96.7					100	80,6	77,0	76,6
Вкупно-Sum					2128	1694	1589	1571				

Забележително пропаѓање на растенијата кај зрачените варијанти е регистрирано и во текот на бртењето на растенијата, како резултат на што процентот на преживеани растенија на крајот од вегетацијата кај сите овие варијанти е значително помал во однос на контролата (Таб. 2 и Сл. 1). Резултатите покажуваат дека во текот на вегетацијата најголем број од никнатите растенија изумреле при варијантите од 150Gy, односно процентот на преживсани растенија во однос на контролата од 76,6% по 30 дена од сеидбата е намален на 64,8% на

крајот од вегетацијата. Кај варијантите од 50 и 100Gy процентот на преживеани растенија во однос на контролата на крајот од вегетацијата исто така се намалил споредено со истиот по 30 дена од сеидбата и изнесува 77,3%, односно 71,5%, последователно (Таб. 1, Таб. 2 и Сл. 1). Овие резултати се слични со резултатите на Akbar and Babar, 2003 и Domingo et al., 2007. Варијантата од 150Gy предизвикала појава и на најголем вкупен број стерилни растенија (490). Вкупниот број стерилни растенија (Таб. 2) е најмал кај контролата (16).

Табела 2. Влијанието на различните дози гама зраци врз бројот на преживеани и стерилни растенија во M₁ генерацијата**Table 2.** Influence of diverse doses of gamma rays on the survived and sterile plants on M₁ generation

Линии и сорти Lines and varieties	Бр. на преживеани раст. на крај од вегетацијата Number of survived plants at the end of vegetation				% на преживеани раст. на крај од вегетацијата во однос на контролата % of survived plants at the end of vegetation compared with the control				Бр. на стерилни раст. на крај од вегетацијата Number of sterile plants at the end of vegetation			
	Ø	50	100	150	Ø	50	100	150	Ø	50	100	150
1/1-2-4	182	130	123	120	100	71.4	67.6	65.9	0	3	15	48
2/8-3	219	196	167	162	100	89.5	76.3	74.0	0	16	30	82
11/1-1-1	206	110	168	141	100	53.4	81.5	68.5	0	3	41	42
11/1-1-2	160	122	148	107	100	76.2	92.5	66.9	0	2	0	32
11/1-1-3	224	157	134	117	100	70.1	59.8	52.2	0	0	16	31
11/1-1-4	238	184	159	101	100	77.3	66.8	42.4	0	0	13	27
25/1-1-2-2	146	128	119	126	100	87.7	81.5	86.3	1	28	37	62
San Andrea	276	229	139	146	100	83.0	50.4	52.9	0	0	35	57
Riva	134	129	111	121	100	96.3	82.8	90.3	13	19	48	85
Cervo	293	200	163	143	100	68.3	55.6	48.8	2	0	7	24
Вкупно-Sum	2078	1585	1431	1284					16	71	242	490
Просек- Average					100	77.3	71.5	64.8	1,6	7,1	24,2	49,0

**Слика 1.** Преживеани растенија во однос на контролата**Figure 1.** Survived plants under field conditions compared with the control

Од табела 3 се гледа дека освен кај генотипот 11/1-1-1, во популациите на контролните варијанти кај преостанатите генотипови не се забележани различни типови растенија. Појавата на 3 различни растенија во контролата од генотипот 11/1-1-1,

веројатно е резултат на недоволна хомозиготност на генотипот. Влијанието на овој елемент кај третираните варијанти не може со сигурност да се издвои и коментира.

Табела 3. Вкупна и процентуална фреквенција на морфолошки мутантни форми во M_2 генерацијата
Table 3. Total and percentile mutation frequency in M_2 generation

Линии и сорти Lines and varieties	Број на анализирани растенија Number of analyzed plants				Вкупен број на регистрирани мутанти Total number of mutants				% на мутанти % of mutants			
	Ø	50	100	150	Ø	50	100	150	Ø	50	100	150
1/1-2-4	100	1 270	1 080	720	-	20	29	46	-	1,57	2,68	6,39
2/8-3	100	1 800	1 370	800	-	16	16	19	-	0,89	1,17	2,37
11/1-1-1	100	1 070	1 270	990	3	11	23	16	3	1,03	1,81	1,62
11/1-1-2	100	1 200	1 480	750	-	6	31	37	-	0,50	2,09	4,93
11/1-1-3	100	1 570	1 180	860	-	5	12	10	-	0,32	1,02	1,16
11/1-1-4	100	1 840	1 460	740	-	3	16	8	-	0,16	1,09	1,08
25/1-1-2-2	100	1 000	820	640	-	6	35	27	-	0,60	4,27	4,22
San andrea	100	2 290	1 040	890	-	8	23	21	-	0,35	2,21	2,36
Riva	100	1 100	630	360	-	8	30	14	-	0,73	4,76	3,89
Cervo	100	2 000	1 560	1 190	-	3	16	21	-	0,15	1,03	1,76
Вкупно-Sum	1000	15140	11890	7 940	3	86	231	219				
Просек-Average									0.3	0.57	1.94	2.76

Вкупниот број на регистрирани мутантни форми е најголем при варијантата од 100Gy (231), а најмал при варијантата од 50Gy. Меѓутоа, и при оваа анализа се забележува дека различните генотипови различно реагираше во однос на различните дози зрачење. Кај дел од користените генотипови има поголем број регистрирани мутанти при варијантата од 100Gy, а кај дел при варијантата од 150Gy. Тоа значи дека дејството на гама зраците освен од дозирањето зависи и од самиот генотип. Како резултат на најмалиот број на преживсани, фертилни и анализирани растенија при варијантата од 150Gy, пресметан е најголем просечен процент на мутантни

форми (2,76%). Кај преостанатите зрачени варијанти тој изнесува 0,57%-при варијантата од 50Gy и 1,94% при варијантата од 100Gy.

Од сите регистрирани мутантни форми во M_2 генерацијата, за натамошно евалуирање на стабилноста на нивните мутантни карактеристики, значајни за селекцијата, избрани се 39 генотипови (Таб. 4). Петнаесет од избраните генотипови се индуцирани од дозата со 150Gy и по дванаесет од другите две дози на зрачење. Најголем број од избраните мутантни генотипови потекнуваат од генотипот 1/1-2-4.

Табела 4. Некои карактеристики на избраните мутанти од M_2 генерацијата
Table 4. Some characteristics in mutants selection in M_2 generation

Линии и сорти Lines and varieties	Доза/ Gy Dose/Gy	Бр. на прод. братимки по растение No. of prod. tiller per plant	Бр. на прод. зрна во гл. метличка No. of prod. grains at the main panicle	Маса на зрна од гл. метличка-g Mass of grains from the main panicle-g	Маса на зрна од цело раст.-g Mass of grains from whole plant-g
1/1-2-4	Ø	6	162	5.18	22
M_2 18/1	50	7	186	5.69	24
M_2 19/1	100	16	169	7.10	64
M_2 19/2	100	13	170	5.85	40
M_2 19/3	100	14	183	5.93	58
M_2 20/1	150	10	162	5.34	59
M_2 20/2	150	13	146	4.72	44

M ₂ 20/4	150	24	168	6.52	97
M ₂ 20/5	150	8	221	6.63	38
M ₂ 20/6	150	13	160	5.43	80
2/8-3	ø	8	160	5.11	29.33
M ₂ 23/1	100	13	237	7.84	52
M ₂ 23/3	100	9	187	6.23	41
11/1-1-2	ø	15.33	158.67	6.52	79
M ₂ 2/1	50	20	181	6.85	82
M ₂ 2/2	50	13	207	7.35	68
M ₂ 3/11	100	11	157	6.71	47
M ₂ 3/12	100	14	136	5.74	54
M ₂ 4/4	150	16	153	6.30	81
M ₂ 4/8	150	13	196	7.34	58
11/1-1-3	ø	13.33	151.33	6.20	50
M ₂ 6/1	50	11	142	5.74	44
M ₂ 6/2	50	10	174	6.97	48
M ₂ 6/3	50	15	113	4.87	53
M ₂ 8/1	150	8	182	6.50	36
M ₂ 8/3	150	14	183	5.89	44
25/1-1-2-2	ø	9.67	160	5.76	47.33
M ₂ 38/1	50	6	257	9.27	33
M ₂ 38/2	50	8	230	8.36	43
M ₂ 39/1	100	20	257	9.71	105
M ₂ 40/2	150	6	256	9.20	45
M ₂ 40/3	150	4	253	9.05	24
M ₂ 40/4	150	5	333	10.86	40
M ₂ 40/6	150	3	237	7.64	14
San Andrea	ø	10	120.67	4.91	46.33
M ₂ 27/1	100	18	206	7.43	63
M ₂ 27/2	100	14	164	7.22	45
Riva	ø	9.67	136.33	4.48	40
M ₂ 30/2	50	11	161	5.76	57
M ₂ 30/4	50	11	103	4.73	56
M ₂ 31/4	100	10	175	5.80	60
M ₂ 31/10	100	13	200	6.81	54
M ₂ 32/1	150	18	195	6.53	82
Cervo	ø	8.67	153	5.44	41
M ₂ 34/2	50	7	283	10.00	50
M ₂ 34/3	50	12	194	6.41	33
M ₂ 36/1	150	21	170	5.33	83

Заклучок

Врз основа на добиените резултати од овие испитувања може да се донесат следниве заклучоци:

1. Употребените дози гама зраци кај испитуваните линии и сорти не манифестираат значајни измени на 'ртливоста во лабораториски услови.
2. Со зголемувањето на дозата на зрачење бројот на преживеани растенија на почетокот и на крајот на вегетацијата се намалува, а бројот на стерилни растенија се зголемува.
3. Влијанието на гама зраците на појавата на мутантни форми е во зависност од употребената доза на зрачење и генетската специфичност на изворниот материјал.
4. Од сите регистрирани мутанти во M₂ генерацијата, за натамошни испитувања се избрани 39 позитивни перспективни генотипови.
5. Најголем број од селектираните мутантни форми од M₂ генерацијата се индуцирани од варијантата со доза на зрачење 150Gy.
6. Генотипот 1/1-2-4 е матичен за најголем број од селектирани мутантни генотипови во M₂ генерацијата.

Заштита на растенија, година XX, бр. 20, ноември 2009

Литература

1. Akbar, A. Ch., Babar, M. A. 2003. Radiosensitivity studies in basmati rice. Pakistan Journal of Botany, 35(2): 197-207.
2. Бовикс, Е. Н. 1978. Некоторые вопросы использования облученной пыльцы в генетике и селекции озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*). Генетика, 14, София: 1237-1246.
3. Domingo, C., Andrés, F., Talón, M. 2007. Rice cv. Bahia mutagenized population: a new resource for rice breeding in the Mediterranean basin. Spanish J. of Agricultural Research, 5(3): 341-347.
4. Енчев, Я., Чиликов, И. 1984. Обща селекция и семепроизводство. Земиздат-София.
5. Gilchrist, J., Haughn, W. 2005. Tilling without a plough: a new method with applications for revers genetics. Curr. Opin. Plant Biol. 8: 211-215.
6. Jander, G., Baerson, R., Hudak, A., Gonzales, A., Gruys, J., Last, L. 2003. Ethylmethanesulfonate saturation mutagenesis in Arabidopsis to determine frequency of herbicide resistance. Plant Physiology 131: 139-146.
7. Янкулов М. 1996. Принципи и методи за генетично подобрување и семепроизводство на растенијата. София.

8. Kim, Y., Schumaker, S., Zhu, K. 2006. EMS mutagenesis of Arabidopsis. *Meth. Mol. Biol.* 323: 101-103.
9. Menda, N., Semel, Y., Peled, D., Eshed, Y., Zamir, D. 2004. In silico screening of a saturated mutation library of tomato. *Plant J.* 38: 861-872.
10. MacKenzie, L., Saadé, E., Le, H., Bureau, E., Schoen, J. 2005. Genomic mutation in lines of Arabidopsis thaliana exposed to ultraviolet-B radiation. *Genetics* 171: 715-723.
11. Swaminatan, S. 1995. The detection of induced mutations. In: FAO/IAEA division of atomic energy in food and agriculture (ed), *Manual on Mutation Breeding*, pp. 138-141. International Atomic Energy Agency, Vienna.
12. Siddiqui, A., Khan, S. 1999. *Breeding in Crop Plants: Mutations and in Vitro Mutation Breeding*. 1st ed. Kalyani Publishers, Ludhiana.

